



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Pat ntschrift
⑩ DE 197 05 910 C 1

⑤ Int. Cl.⁶:
B 01 L 3/00
H 01 L 49/00

②① Aktenzeichen: 197 05 910.4-52
②② Anmeldetag: 15. 2. 97
④③ Offenlegungstag: -
④⑤ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 18. 6. 98

BEST AVAILABLE COPY

DE 197 05 910 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ Patentinhaber:
Institut für Physikalische Hochtechnologie e.V.,
07743 Jena, DE

⑦④ Vertreter:
R.-G. Pfeiffer und Kollegen, 07743 Jena

⑦② Erfinder:
Ermantraut, Eugen, 07745 Jena, DE; Köhler, Johann
Michael, Dr., 07751 Golmsdorf, DE; Mayer, Günter,
Dr., 07749 Jena, DE; Wohlfart, Klaus, Dipl.-Chem.,
07751 Bucha, DE

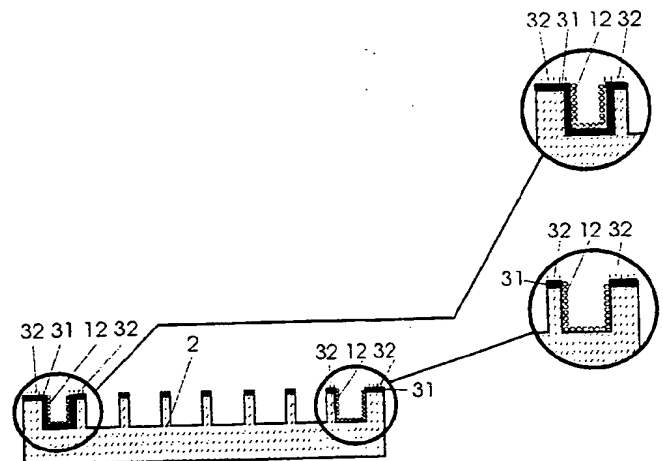
⑤⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE 42 09 064 A1
DE 39 15 920 A1
US 54 62 839
US 52 29 163
US 50 41 266
US 47 41 619

JP 2-95258 A. In: Patents Abstracts of Japan,
Vol. 14 (1990) Sect. P;
JP 2-35360 A. In: Patents Abstracts of Japan,
Vol. 14 (1990) Sect. P;

⑤④ Mikrokammerarray mit hoher Kammerdichte

⑤⑦ Die Erfindung betrifft ein Mikrokammerarray mit einer hohen Kammerdichte. Die Aufgabe, möglichst hohe Kammerdichten pro Fläche anzugeben, bei denen ein Übersprechen benachbarter Kammerinhalte selbst bei einer Kammerüberfüllung unterbunden ist, ohne daß die Art der Kammerbefüllung einer Veränderung bedarf, wird dadurch gelöst, daß den Kammerinnenwandungen der kammerartigen Ausnehmungen eine erste funktionelle Oberflächenbelegung gegeben ist, wohingegen zumindest die Trägeroberflächenbereiche, die die einzelnen kammerartigen Ausnehmungen an der offenen Kammerseite voneinander beabstanden, mit einer, in der Wirkung der ersten funktionellen Oberflächenbelegung entgegengesetzten, zweiten funktionellen Oberflächenbelegung versehen sind.



DE 197 05 910 C 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Mikrokammerarray mit einer hohen Kammerdichte. Arrays von Mikrokammern mit Einzelkammervolumina im Submikroliterbereich finden in der Biotechnologie, beim Wirkstoffscreening und in der kombinatorischen Chemie für eine parallele und automatisierte Handhabung kleiner Flüssigkeitsmengen Anwendung.

Es sind Arrays mit Kavitäten und Verfahren zu ihrer Herstellung bekannt, die auf der Basis von Kunstharzen (JP 2-95258 A, JP 2-35360 A) oder auf der Basis von hydrophoben Polymeren, die einer selektiven Plasmabehandlung ausgesetzt wurden (US 5,041,266; US 5,229,163, US 4,741,619), gefertigt sind. In DE 42 09 064 A1 werden die Kammerausnehmungen durch einfaches mechanisches Bohren in einem Teflonsubstrat erzeugt. Die Hauptnachteile dieser Gruppe von Kammerarrays besteht darin, daß sich, in bezug auf vorliegende Erfindung, mit heute bekannten Techniken nur Ausnehmungen mit relativ großen Abständen herstellen lassen und daß diese Kammerarrays nicht autoklavierbar und somit Wegwerfartikel sind.

Auch ist die Herstellung von mikromechanischen Strukturen und Kavitäten in halbleitendem Material oder Glas auf der Basis naßchemischer Ätztechniken (DE 39 15 920 A1) oder Trockenätztechniken in Verbindung mit fotolithografischen Schritten (US 5,462,839) beschrieben. G. Mayer, J.M. Köhler beschreiben in "Microchemical Compartments for Biotechnological Applications: Fabrication and Investigation of Liquid Evaporation, Proc. of Eurosensors X, Vol 2, Leuven, Belgium, Sept. 1996" Mikrokammern im Submikroliterbereich, die aus Siliziumwafern hergestellt werden, in die mittels geeigneter Maskierungsverfahren und anisotroper naßchemischer Ätztechniken eine Vielzahl von Ausnehmungen eingebracht sind. Diese Kammern werden je nach gewähltem Anwendungsfall mit Flüssigkeiten, insbesondere wäßrigen Lösungen, mittels Mikropipetten befüllt. Bei der zuletzt beschriebenen Gruppe von Mikroarrays besteht die Gefahr, daß ein Übersprechen der einzelnen Kammerinhalte in benachbarte Kammern möglich ist. Da man, aufgrund der geringen Kammervolumina und eines dadurch bedingten spürbaren Verdunstungsverlustes bestrebt ist, in einer gesättigten Dampfatmosfera zu arbeiten, erhöht sich die Übersprechwahrscheinlichkeit bspw. durch Wasserdampfkondensation an Bereichen zwischen den Kammern noch zusätzlich. Um diese Gefahr einer möglichen Vermischung von Kammerinhalten bzw. Kontaminationen weitestgehend zu unterdrücken, bleibt nach dem bekannten Stand der Technik nur die Möglichkeit, die Kammern voneinander hinreichend beabstandet auszubilden, was die Kammeranzahl pro vorgegebener Fläche reduziert.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Mikrokammerarray mit einer möglichst hohen Kammerdichte pro Fläche anzugeben, bei dem ein Übersprechen benachbarter Kammerinhalte selbst bei einer Kammerüberfüllung unterbunden ist, ohne daß die Art der Kammerbefüllung einer Veränderung bedarf.

Die Aufgabe wird durch ein Mikrokammerarray mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind Gegenstand der Unteransprüche.

Bei einem mit einer Vielzahl von Ausnehmungen versehenen Träger, der als Mikrokammerarray Verwendung finden soll, sind die Trägeroberflächenbereiche, welche die einzelnen kammerartigen Ausnehmungen an der offenen Kammerseite voneinander beabstandet, mit einer ersten funktionellen Gruppe versehen, deren Wirkung entgegen der Oberflächenbelegung der Kammerinnenwandungsbereiche ist. Im Falle des Einsatzes von wäßrigen Lösungen ist genannten Trägeroberflächenbereichen dabei eine hydro-

phobe Eigenschaft verliehen, wohingegen die Kammerinnenwandungsbereiche eine hydrophile Eigenschaft aufweisen. Die Verleihung der gewünschten Oberflächenbelegung der genannten Trägeroberflächenbereiche wird dadurch erreicht, daß diese Bereiche wenigstens einmal von einem funktionellen Oberflächenbelegung tragenden oder verursachenden Agens versehenen unprofilierten elastomeren Körper kontaktierend erfaßt werden.

Das Mikrokammerarray soll nachstehend anhand eines Ausführungsbeispiels und schematischer Zeichnungen näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 beispielhaft ein Mikrokammerarray.

Fig. 2 eine Teilschnittebene des Mikrokammerarrays nach **Fig. 1** bei einer Schnittführung entlang einer Linie A-A,

Fig. 3 eine besondere Ausgestaltung der Oberfläche des Mikrokammerarrays in Vorbereitung zur Erzeugung einer hydrophoben Oberflächenbelegung,

Fig. 3a und **3b** je eine Variante einer Ausbildung nach **Fig. 3**.

Fig. 4 angedeutet die Erzeugung einer hydrophoben Oberflächenbelegung.

Fig. 5a zwei benachbarte, überfüllte Einzelkammern eines Mikrokammerarrays und

Fig. 5b zwei benachbarte, normalbefüllte Einzelkammern eines Mikrokammerarrays.

In **Fig. 1** ist ein Mikrokammerarray, bestehend aus einem Träger **2**, der im Beispiel aus Silizium bestehen soll und Teil eines üblichen Siliziumwafers sein kann, dargestellt, welchem eine Vielzahl von kammerartigen Ausnehmungen **1** gegeben ist. In Realität besitzen dabei die Ausnehmungen Abmessungen in der Größenordnung von $800\text{ }\mu\text{m} \cdot 800\text{ }\mu\text{m}$ bei einem Volumen von 140 nl und das Mikrokammerarray verfügt in diesem Fall über einhundert solcher Ausnehmungen pro cm^2 . Ebenso sind Mikrokammerarrays mit Kammervolumen in der Größenordnung von 20 nl herstellbar, wobei dann 400 solcher Ausnehmungen/ cm^2 erreichbar sind. **Fig. 2** zeigt eine Teilschnittebene des Mikrokammerarrays nach **Fig. 1** bei einer Schnittführung entlang einer Linie A-A. Im Beispiel wird das Mikrokammerarray zunächst mittels üblicher Sputterverfahren mit einer ca. $50\text{ ... }100\text{ nm}$ dicken Goldschicht **31** ganzflächig beschichtet, wobei in **Fig. 3a** nur die Goldbeschichtung der Oberflächen **3** der Stegbereiche dargestellt ist. Weiterhin wird ein weiterer Siliziumwafer **40** mit einer elastomeren Beschichtung **41** versehen, die vorteilhaft durch aufgeschleudertes Polydimethylsiloxan, das nach dem Aufschleudern ausgehärtet wird, gebildet ist. Auf diese Silikonelastomerschicht **41** wird eine dünne Schicht **42** einer Substanz mit einer funktionellen Gruppe, hier in Form eines thiofunktionellen Alkans (5% in Ethanol), wie z. B. Hexadecylmercaptan, aufgetragen. Anschließend erfolgt ein Auflegen des derart aktivierten, unprofilierten Silikonstempels **4** auf die Oberfläche des Mikrokammerarrays, wie in **Fig. 4** durch einen Doppelpfeil angedeutet. Dadurch wird die Ausbildung einer chemisch sehr stabilen Gold-Thiol-Bindung an der Oberfläche **3** der offenen Einzelkammern **1** beabstandeten Stege bewirkt, da nach wird der Stempel **4** entfernt. Die auf den Bereichen des Mikrokammerarrays gebildete monomolekulare Schicht **32** eines Thioalkans modifiziert nur diese Bereiche, während die Kammerinnenwandungen **10** unbeeinflusst, im vorliegenden Beispiel als in **Fig. 3b** dargestellte Goldoberflächen **31**, verbleiben.

In einem sich anschließenden weiteren Schritt kann durch selektives Ätzen die an den Kammerinnenwandungen verbliebene dünne Goldschicht **31** abgetragen werden, ohne daß dabei die mit der Thioalkanschicht modifizierten Oberflächenbereiche **32** angegriffen werden. Als Ätzmittel hier

für eignet sich eine 0,1 M KCN-Lösung mit 0,001 M $K_3Fe(CN)_6$ als Oxidationsmittel. Die Ätzzeit liegt für eine bspw. 50 nm dicke Goldschicht unter 1 min.

Der sich eben beschriebene anschließende weitere Schritt kann jedoch auch so ausgeführt werden, daß die an den Kammerinnenwandungen verbliebene Goldschicht **31** nicht selektiv abgetragen, sondern durch eine weitere selektive Reaktion mit einer weiteren thiofunktionellen Gruppe, z. B. Thioglycerin, modifiziert wird. Dabei bindet das Thioglycerin an den blanken goldbeschichteten Kammerinnenwandungen unter Bildung einer Schicht **12**, nicht jedoch an den mit Thioalkan modifizierten goldbeschichteten Oberflächenbereichen **32**, was in einem Teilschnitt in Fig. 3b angedeutet ist. Dadurch werden den Kammerinnenwandungen ebenfalls hydrophile Eigenschaften verliehen und das Benetzungsverhalten gegenüber den hydrophoben Außenbereichen sogar noch weiter verbessert.

Bei einer Befüllung des Mikrokammerarrays mit wässrigen Lösungen, wie in den Fig. 5a und 5b in einem Teilausschnitt angedeutet, wirkt die gebildete Thioalkanschicht stark hydrophob, wohingegen die Oberflächen **10** der Kammerinnenwandungen sich hydrophil verhalten. Dies führt dazu, daß selbst bei einer Überfüllung der Einzelkammern (vgl. Fig. 5a) mit dem nahezu doppelten Kammervolumen ein sich ausbildender tropfenförmiger Überhang **5** einen Randwinkel α von $> 90^\circ$ annimmt, ohne daß es zum Übersprechen der Flüssigkeit zwischen den benachbarten Einzelkammern kommt. Im Falle einer Normalbefüllung stellt sich in Beispiel nach Fig. 5b ein Randwinkel β von $> 30^\circ$ ein.

Die Erfindung ist nicht auf das dargestellte Ausführungsbeispiel beschränkt. Insbesondere beim Einsatz nichtwässriger Lösungen, wie z. B. in Ethanol, Toluol oder Acetonitril kommt es im Rahmen der Erfindung darauf an, das Benetzungsverhalten genannter Oberflächenbereiche **3**, deutlich verschieden zum Benetzungsverhalten der Kammerinnenwandungsbereiche auszubilden, was durch eine geeignete Auswahl unterschiedlicher erster und zweiter funktioneller Gruppen geschieht, wobei für die erste funktionelle Gruppen dann nichtbenetzend wirkende Substanzen in Frage kommen, wie z. B. Alkane und Silane, und für die zweiten funktionellen Gruppen benetzend wirkende Substanzen in Frage kommen, wie z. B. Glycerin, Alkohole, Carbonsäuren oder Ester und die Aufbringung der zweiten funktionellen Gruppe mittels genannten elastomeren Stempels **4** gelingt. Auch die beispielhafte Ausbildung des elastomeren Stempels als ebener, unprofilierter Platte stellte keine Beschränkung der Erfindung nur darauf dar. Ebenso wäre es möglich, eine in einer Dimension gewölbte Platte oder einen walzenförmigen Körper einzusetzen, der die zweite funktionelle Gruppe trägt und durch Abrollung die gewünschten Oberflächenbereiche **3** des Mikrokammerarrays erfaßt.

Patentansprüche

1. Mikrokammerarray, bestehend aus einem, mit einer Vielzahl kammerartiger Ausnehmungen (**1**) versehenen Träger (**2**), **dadurch gekennzeichnet**, daß der die Ausnehmungen (**1**) beinhaltende Träger (**2**) aus Silizium besteht und der Träger (**2**) zumindest an den Oberflächen (**3**) der Stegbereiche zwischen den Ausnehmungen (**1**) mit einer dünnen Goldschicht (**31**) und diese Goldschicht (**31**) mit einer ersten funktionellen Oberflächenbelegung (**32**) versehen ist, wobei die Kammerinnenwandungen (**10**) der kammerartigen Ausnehmungen (**1**) mit einer in der Wirkung der ersten funktionellen Oberflächenbelegung (**32**) entgegengesetzten zweiten funktionellen Oberflächenbelegung (**12**) versehen sind.

2. Mikrokammerarray nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß im Falle des Einsatzes von wässrigen Lösungen der ersten funktionellen Oberflächenbelegung (**32**) eine hydrophobe Eigenschaft und der zweiten funktionellen Oberflächenbelegung (**12**) eine hydrophile Eigenschaft aufgeprägt ist.

3. Mikrokammerarray nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die erste funktionelle Oberflächenbelegung (**32**) aus einer monomolekularen Schicht eines Thioalkans gebildet ist.

4. Mikrokammerarray nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß auch die Kammerinnenwandungen (**10**) mit einer Goldbeschichtung (**31**) versehen sind, welche mit der zweiten funktionellen Oberflächenbelegung (**12**) versehen ist.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

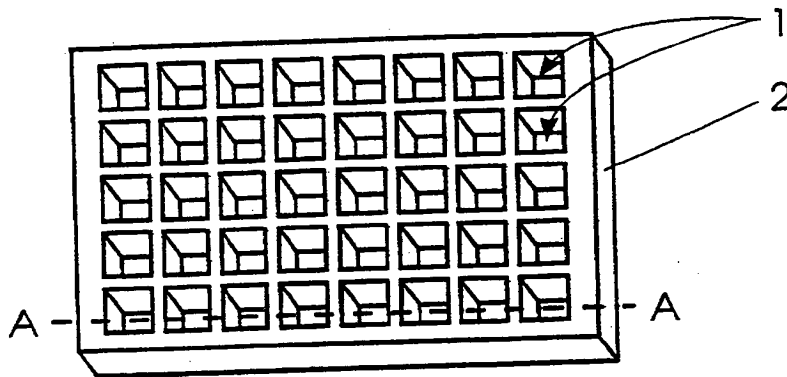


Fig. 1

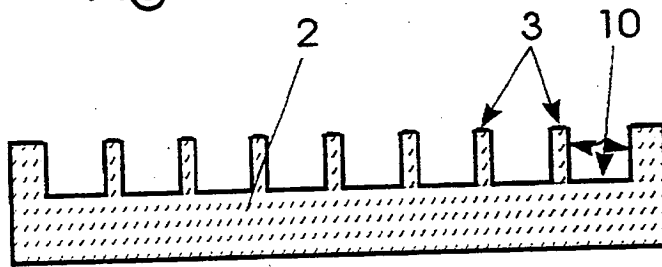


Fig. 2

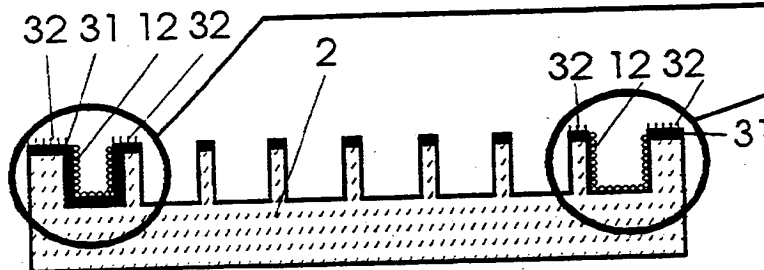


Fig. 3

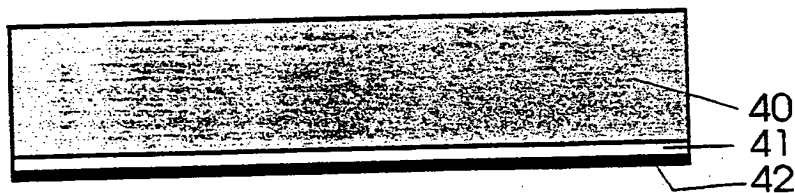


Fig. 4

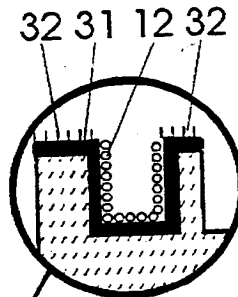
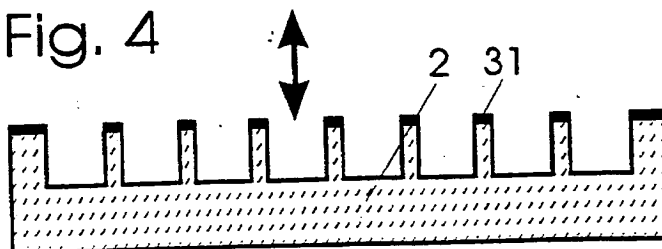


Fig. 3b

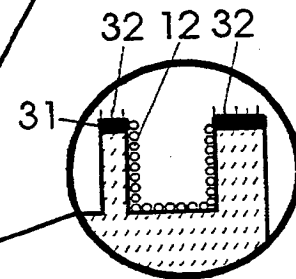


Fig. 3a

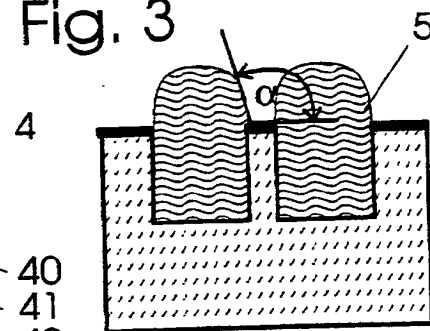


Fig. 5a

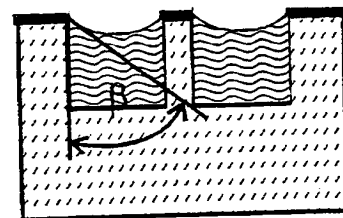


Fig. 5b